

[専門科目 (生化学)] (全2題)

[問題1] 次の文章を読み、以下の問A～Fに答えよ。

一般的に真核生物の遺伝子発現は、転写因子と呼ばれる一連のタンパク質がDNA内の **a** 領域に結合した後、^①RNAポリメラーゼIIによる mRNA前駆体の合成 から始まる。真核細胞の核内で合成されたこの mRNA 前駆体は、下記(1)～(3)のRNA **b** と呼ばれる転写後修飾を受けて成熟 mRNA となる。

- (1) RNA キャップ形成：転写された mRNA の5'末端側にキャップ形成因子によって^②キャップが付加される。キャップは、7-メチルグアノシンと mRNA を5'-5'三リン酸結合を介して連結させたものである。転写開始後、早期の段階で mRNA のキャップ形成は起きている。
- (2) ポリアデニル化：転写された mRNA の3'末端側には酵素によって^③アデニンの反復配列が付加される。このポリアデニル部の長さは、通常、数百ヌクレオチドになる。
- (3) ^④RNA スプライシング：真核生物の mRNA 内にあるタンパク質の配列情報を司る翻訳領域である **c** は、非翻訳領域である **d** によって分断されている。**d** は RNA スプライシングによって、**e** 構造の形で mRNA から除去される。RNA スプライシングにはスプライソソームと呼ばれる RNA-タンパク質複合体が重要な役割を果たしている。

成熟 mRNA は **f** を通って細胞質へと輸送された後、タンパク質合成(翻訳)に利用される。

問 A ～に適切な語句を入れよ。

問 B 下線部①に関して、DNA ポリメラーゼによる DNA 合成との違いを 50 字程度で述べよ。

問 C 下線部②の構造を構造式で示せ。

問 D 下線部③に関して、mRNA の 3'末端にアデニンの反復配列が付加されることで期待される効果を二点述べよ。

問 E 下線部④に関して、真核生物が行っている RNA スプライシングのタンパク質合成における利点を述べよ。

問 F RNA は多くの生化学反応を触媒している。タンパク質が担う触媒反応と比較して、RNA の担う触媒反応の有する特徴を二点述べよ。

[問題2] 次の文章を読み、以下の問A～Dに答えよ。

リゾチームは涙や卵白に含まれる酵素であり、①細菌のペプチドグリカンを構成する多糖類のグリコシド結合を切断する。細胞壁が分解されると細菌は容易に溶菌するため、リゾチームは抗菌作用を持つことになる。純粋なリゾチームの標品を調製する場合、②ニワトリ卵白から精製するのが一般的である。ニワトリ卵白リゾチーム(HEWL)は③非常に安定で試薬としても市販されており、生化学実験においては大腸菌の破碎などに使用される。HEWLは129個のアミノ酸残基から構成される。そのアミノ酸配列を1文字表記で以下に示す。

K V F G R C E L A A A M K R H G L D N Y R G Y S L G N W V C
A A K F E S N F N T Q A T N R N T D G S T D Y G I L Q I N S
R W W C N D G R T P G S R N L C N I P C S A L L S S D I T A
S V N C A K K I V S D G N G M N A W V A W R N R C K G T D V
Q A W I R G C R L

HEWLはこれまでに酵素-基質複合体などの構造が多数報告されており、分子表面に基質を結合するための割れ目をもつことが明らかにされている。この割れ目に基質となる多糖鎖の6個の糖が結合する。割れ目の内部にある35番目のGlu(Glu35)と52番目のAsp(Asp52)が切断されるグリコシド結合を挟むように位置しており、触媒基として機能する。これらの残基に近い位置に結合している糖のコンフォメーションは安定なイス型からゆがんでいる。このような立体構造情報をもとに、いくつかの④触媒機構が提案されている。

問 A 下線部①に関して、大腸菌などのグラム陰性細菌と枯草菌などのグラム陽性細菌とではリゾチームに対する感受性に違いがみられる。この違いについて、細胞の構造の違いにもとづいて 100 字程度で説明せよ。

問 B 下線部②に関して次の文を読み、～に適切な語句を入れよ。

イオン交換クロマトグラフィーによってタンパク質の精製をおこなう場合には、まず荷電したタンパク質をイオン交換樹脂に結合させる。溶液のイオン強度を上げると、樹脂に結合したタンパク質が溶出される。イオン強度を徐々に上げていくことで、静電的性質の異なるタンパク質どうしを分離することができる。HEWL のアミノ酸配列中にはアミノ酸の数よりもアミノ酸の数のほうが圧倒的に多い。このため、中性の溶液中ではの電荷を持ち、イオン交換樹脂に結合させることができる。HEWL のより高い pH の溶液を使用した場合に、この樹脂には結合しない。

問 C 下線部③に関して次の文を読み、～に適切な語句を入れよ。

リゾチームが持つ高い安定性の要因として分子内に形成された結合が挙げられる。HEWL の場合には 8 個の残基が含まれており、4 つの結合が存在する。HEWL の前駆体タンパク質にはに配列が存在するが、内腔への輸送に伴って切断される。において、酵素により正しい組み合わせの結合が形成される。成熟した HEWL は、から細胞外へと分泌される。細胞外の酸化的環境下では、結合は還元による切断を受けにくい。

問 D 下線部④に関して、現在最も有力な反応機構として、Asp52 と基質とのあいだに共有結合中間体が形成される機構が提案されている (図 1)。この反応機構に関する以下の問(1)~(4)に答えよ。

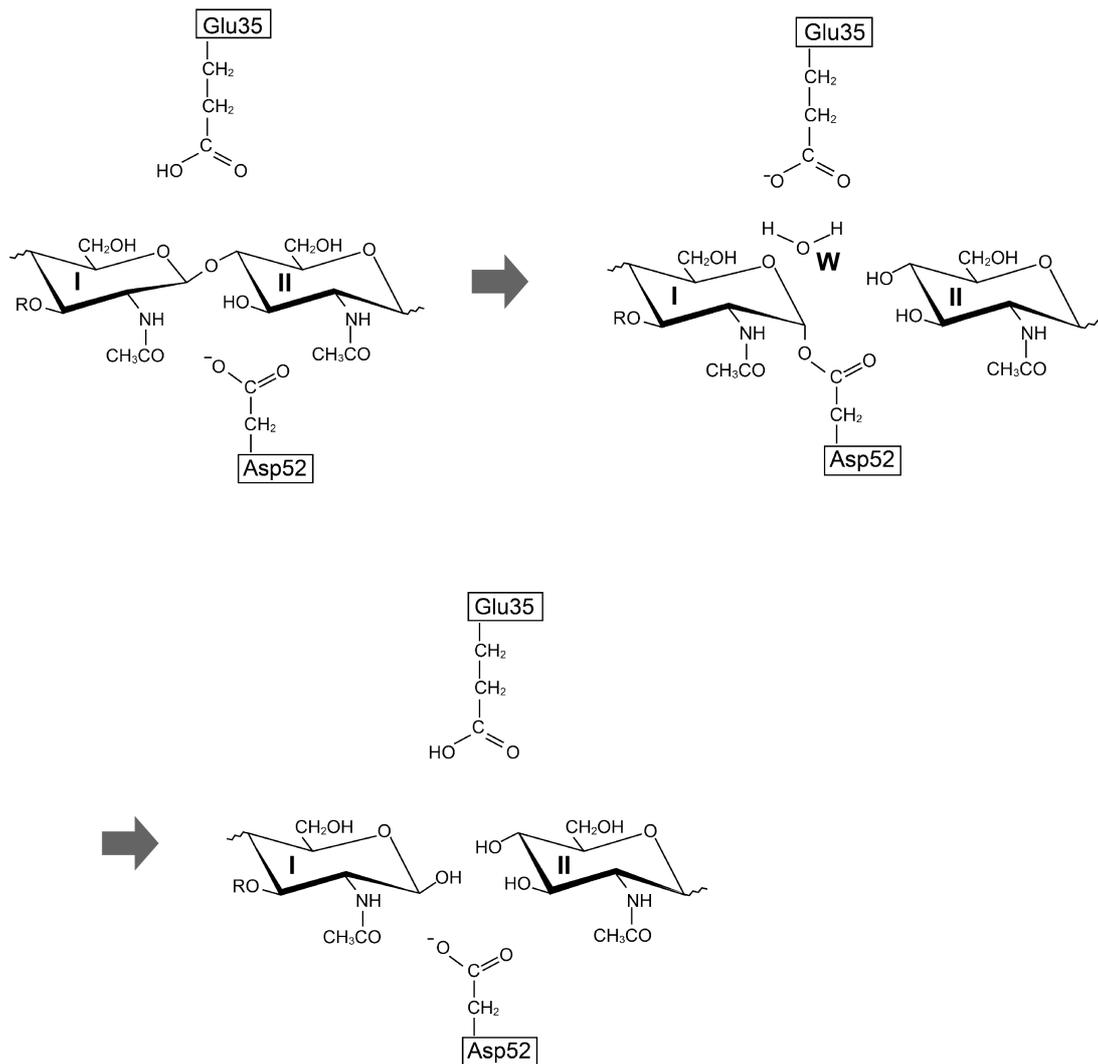


図 1 HEWL における糖鎖切断反応. 酵素の割れ目には多糖鎖の 6 つの糖が結合するが、図では切断を受けるグリコシド結合を形成する糖 I (*N*-アセチルムラミン酸: NAM) と糖 II (*N*-アセチルグルコサミン: NAG) 以外は省略した. NAM の R は $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$ である.

- (1) 酵素-基質複合体の中では, Glu35 の側鎖はプロトン化した状態で存在する. 共有結合中間体の形成過程における Glu35 の作用を 50 字程度で説明せよ.
- (2) 反応が終了したとき, 水分子 **W** の酸素原子は Glu35, Asp52, 糖 **I**, 糖 **II** のいずれに付加されるか.
- (3) 反応が終了したとき, 糖 **I** のアノマー炭素の立体配置は基質と同じに維持される. 共有結合中間体からこのような生成物が生じる機構について 100 字程度で説明せよ.
- (4) HEWL では, さまざまなアミノ酸残基の変異体解析の結果が報告されている. Glu35 を Gln に置換した変異型の酵素活性と基質 (糖鎖) に対する親和性が野生型と比較してどうなるのかそれぞれ推察し, 理由とともに答えよ.